

Untersuchungen über Spezifität und  
Anwendungsmöglichkeiten der Frischblut-  
schnellagglutination zur Diagnose der  
Hühnertuberkulose

Karl-Eberhardt Mäder

35

1964



Aus dem Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart  
Vorstand: Oberregierungsveterinär rat Dr. Scheu

Vorgelegt vom Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten  
der Tiere an der Universität München  
Vorstand: Professor Dr. A. Mayr  
-----

UNTERSUCHUNGEN ÜBER SPEZIFITÄT UND  
ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN DER FRISCHBLUTSCHNELLAGGLUTINATION  
ZUR DIAGNOSE DER HÜHNERTUBERKULOSE

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

von  
Karl-Eberhardt Mäder  
appr. Tierarzt  
aus Nagold

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Professor Dr. L. Kotter

Referent: Professor Dr. A. Mayr

Tag der Promotion: 28. Februar 1964



UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

M e i n e n E l t e r n

i n D a n k b a r k e i t g e w i d m e t



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548301\\_0082](https://archive.org/details/IA41548301_0082)

## INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                                        | Seite |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| I. Einleitung                                                                          | 1     |
| II. Literaturübersicht                                                                 | 2     |
| III. Eigene Untersuchungen                                                             | 9     |
| A. Material und Methode                                                                | 9     |
| B. Vorversuche                                                                         | 13    |
| C. Untersuchungen an lebenden Hühnern<br>(Feldversuche)                                | 16    |
| D. Untersuchungen an toten Hühnern                                                     | 21    |
| 1. Schnellagglutination mit Blutgerinnsel<br>toter Hühner                              | 21    |
| 2. Schnellagglutination mit Muskelsaft<br>toter Hühner                                 | 21    |
| E. Besprechung der Ergebnisse                                                          | 21    |
| 1. Allgemeine Gesichtspunkte zur Pathogenese<br>und Verlaufsform der Hühnertuberkulose | 22    |
| 2. Tuberkuloseablauf und Sicherheit der<br>diagnostischen Methoden                     | 23    |
| 3. Die Anwendungsmöglichkeiten der Schnell-<br>agglutination bei toten Hühnern         | 23    |
| 4. Praktische Folgerungen                                                              | 24    |
| a) Für die Diagnose der Hühnertuberkulose                                              | 24    |
| b) Für die Bekämpfung der Hühnertuberkulose                                            | 25    |
| IV. Zusammenfassung                                                                    | 26    |
| V. Literaturverzeichnis                                                                | 28    |
| Lebenslauf                                                                             | 31    |



## I. EINLEITUNG

Die Tilgung der Rindertuberkulose ist in der Bundesrepublik Deutschland im wesentlichen abgeschlossen. Dagegen haben die Haustierinfektionen mit dem *Mycobacterium avium* noch nichts an Bedeutung verloren. Es sind solche Infektionen häufig Ursache positiver oder fraglicher Tuberkulinreaktionen beim Rind. Aviäre Tuberkulose-Infektionen stören also die Überwachung der tuberkulosefreien Rinderbestände, sie können aber auch zu pathologisch-anatomischen Veränderungen und zur Erregerausscheidung beim Rind führen. Die Tuberkulose des Schweines wird im überwiegenden Teil der Fälle durch das *Mycobacterium avium* verursacht und führt auf Grund der fleischbeschaulichen Beurteilung zu nicht unbedeutenden wirtschaftlichen Verlusten. Auch kann außerdem bei Tuberkuloseerkrankungen des Menschen der Erreger der Geflügeltuberkulose beteiligt sein.

Quelle aller dieser Infektionen dürfen neben den Wildvögeln vorwiegend die Hühner sein. So erscheint, schon im Interesse des Huhnes selbst, eine Bekämpfung der Geflügeltuberkulose unumgänglich.

Voraussetzung für jede Bekämpfung einer Seuche ist ein geeignetes und zuverlässiges Diagnoseverfahren. Die Ermittlung der Geflügeltuberkulose mit Hilfe der Tuberkulinprobe, in der Regel am Kehllappen durchgeführt, bringt beim Huhn erhebliche Schwierigkeiten mit sich. Als nachteilig erweist sich neben dem wiederholten Einfangen der Hühner beim Tuberkulinisieren und Ablesen vor allem die diagnostische Unsicherheit der Tuberkulinprobe beim Einzeltier. Außerdem erfordert die einwandfreie intrakutane Injektion äußerste Sorgfalt. So ist es verständlich, daß nach neuen Wegen bei der intravitalen Diagnose der Tuberkulose des Huhnes gesucht wurde.

In der vorliegenden Arbeit werden Versuche mit der Frischblutschnellagglutination zur Diagnose der Geflügeltuberkulose beschrieben. Es handelt sich dabei um ein Verfahren, das in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen hat und das wegen der in einem Arbeitsgang möglichen Untersuchung besticht. Ein weiterer Vorteil der Schnellagglutination liegt bei Bestandsuntersuchungen darin, daß beim Auftreten von positiven Befunden die Untersuchungen abgebrochen werden können. In den letzten Jahren befaßten sich zahlreiche Autoren mit dem hier vorliegenden Problem.

## II. LITERATURÜBERSICHT

Meyn (15) weist darauf hin, daß eine Ansteckung des Rindes mit Geflügel-tuberkulosebakterien zur Ursache einer Tuberkulinreaktion werden kann. Die Tiere erwerben eine vorübergehende Tuberkulinempfindlichkeit und reagieren bei der Tuberkulinprobe fraglich oder positiv. Er schreibt im Jahre 1962, daß im ganzen Bundesgebiet bei 28 442 Tieren (0,22 %) in 16 501 Beständen (1,35 %) unspezifische Tuberkulinreaktionen aufgetreten sind, die vielfach auf Infektionen mit dem aviären Tuberkulosebakterium zurückzuführen waren. Die Infektion verläuft allerdings, von wenigen Ausnahmen abgesehen, harmlos.

Schaaf und Beerwerth (23) untersuchten 1086 unspezifisch auf Tuberkulin reagierende Rinder. Bei 64 (5,9 %) dieser Tiere ließ sich durch Kultur- und Tierversuche das *Mycobacterium avium* feststellen, davon 41mal, also in rund 2/3 der Fälle, im Verdauungskanal (Darm- und Darmlymphknoten, Mandeln und Rachenlymphknoten) und 15mal in der Lunge, der Haut und den Körperlymphknoten. 8mal handelte es sich um eine generalisierte Tuberkulose mit oder ohne Herdbildung.

Drawer (5) untersuchte mittels der Kehllappenprobe in 5 Gemeinden des Kreises Bad Kreuznach 5 533 Hühner aus 292 Beständen. Er stellte fest, daß 46,9 % der Bestände und 4,5 % der Hühner tuberkulös verseucht waren. In Betrieben mit positiven oder fraglichen Tuberkulinreaktionen im Rinderbestand waren die zugehörigen Hühnerbestände in 62,8 % der Fälle verseucht.

Nassal (19) stellte in der Milch eines Vorzugmilchbetriebes das *Mycobacterium avium* fest. Die daraufhin vorgenommene Tuberkulinisierung an 972 Hühnern in 7 Vorzugmilchbetrieben zeigte, daß 6,3 % der Tiere positiv reagierten. Bei 5 dieser 7 Betriebe konnten im Hühnerbestand Tuberkulosebakterien nachgewiesen werden.

Wirtschaftlich gesehen ist, wie Meyn (15) schreibt, die Ansteckung des Schweines mit *Mycobacterium avium* noch bedeutungsvoller, als die Ansteckung des Rindes. Er berichtet, daß in etwa 41 % der Schlachtschweine tuberkulöse Veränderungen, vor allem in den Darmlymphknoten, zu finden sind. Nach den ABA zum Fleischbeschaugesetz müssen diese Tiere als bedingt tauglich erklärt werden.

Zu erwähnen sind noch die Gefahren, die durch die Geflügeltuberkulose für den Menschen gegeben sein könnten. Schon 1934 berichtet Morelli über

den Nachweis von Geflügel tuberkulosebakterien beim Menschen. Die Erkrankung war in der Hauptsache im Urogenitalapparat und in einem Fall in der Lunge lokalisiert, Nassal (18) berichtet von 23 ermittelten Tuberkulosefällen aviärer Genese beim Menschen, 12 dieser Fälle entfielen auf pulmonale und 11 auf extrapulmonale Erkrankungsformen. Kinder und Jugendliche infizierten sich vorwiegend alimentär, ältere Personen auf aerogenem Wege.

Nicht zuletzt muß die Bedeutung der Geflügel tuberkulose für das Huhn selbst erwähnt werden. Vom 1.10.1960 bis zum 30.9.1962 wurden nach Woemle (persönliche Mitteilung an Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart) 342 verendete bzw. getotete Hühner untersucht. Dabei ergab sich in 223 Fällen (3,52 %) das Vorliegen der Geflügel tuberkulose. Unter 3513 Hühnern, die aus bäuerlichen Betrieben stammten, wurden 215 tuberkuloseinfizierte Tiere (0,6 %) gefunden. In den dem Geflügelgesundheitsdienst angeschlossenen Betrieben waren von 2769 eingesandten Tieren nur 8 Tiere (0,3 %) an Tuberkulose erkrankt.

Die Feststellung der Geflügel tuberkulose mittels der Keimflappenprobe wurde zuerst erfolgreich von van Es und Schalk 1914 durchgeführt. Es hat sich aber gezeigt, und viele Autoren (Feldmann (7), Gylstorff (9), Rheinhardt (22), Fritzsche und Unruh (8) haben es beschrieben, daß die intrakutane Allergieprobe oft Fehlergebnisse bringt und deshalb nur zur Herdendiagnose geeignet ist (Klein und Steffke (13)).

Diese Fehldiagnosen bei der allergischen Probe werden von einigen Autoren mit anergischen Zuständen infolge fortgeschrittener Erkrankung begründet. Andere Autoren meinen, daß die allergische Reaktion auf Tuberkulin eintreten kann, bevor tuberkulöse Herde sichtbar werden. Meyn und Schließer (16) führen das Versagen der Tuberkulinprobe auf die unterschiedliche Antigenstruktur des Tuberkulosebakteriums zurück.

Mehrere Autoren versuchten, durch Modifizierung der Untersuchungstechnik und Verbesserung des Tuberkulins die Treffsicherheit der Allergieprobe zu erhöhen.

Fritzsche und Unruh (8) prüften eingehend die Möglichkeit, ob durch wiederholtes Tuberkulinisieren eine bessere Erfassung der tuberkulosekranken Hühner erreicht werden kann. Sie nahmen ebenso wie Beller (2) an, daß Hühner von Natur aus sehr widerstandsfähig gegen das *Mycobacterium avium* sind. In einem Hühnerbestand kann deshalb die Gegenwart des Tuberkuloseerregers durch die einmalige Tuberkulininjektion nicht mit Sicherheit ermittelt werden. Hinzu kommt, daß das infizierte Huhn auf die Einspritzung von 0,1 ml

Tuberkulin nur in einem bestimmten Infektionszustand reagiert. Diese Reaktionslage ist möglicherweise mit dem Ablauf einer Bakteriämie verbunden. In einer anderen Infektionsphase reicht, wie die genannten Autoren erwähnen, die eingespritzte Tuberkulinmenge gegebenenfalls nicht zur Auslösung einer Hautreaktion aus. Bei ihren Versuchen injizierten sie 3mal im Abstand von je einem Tag 0,1 ml Tuberkulin. Dabei zeigte sich, daß mit nur einer Tuberkulin-Injektion lediglich 1 Drittel der infizierten Tiere erfaßt wurde, der Rest jedoch erst nach einer zweiten oder dritten Tuberkulin-Injektion.

Vorgenannte Autoren suchten die Fehlerquelle der Tuberkulinprobe in dem Reaktionsvermögen bzw. der Reaktionsbereitschaft des Tieres. Nachstehende Autoren wollten die im Tuberkulin liegenden Fehlerquellen feststellen bzw. ausschließen.

So empfiehlt Eissner (6) die Einführung eines staatlich geprüften Einheitsgeflügel-tuberkulins mit einer Wertigkeit von 25 000 Tuberkulineinheiten je ccm.

Vergleichende Untersuchungen mit einem Geflügelalttuberkulin und einem synthetischen Tuberkulin führte Bergmann (3) durch. Wichtig war ihm, ob zweifelhafte Alt-tuberkulinreaktionen mit dem synthetischen Tuberkulin abgeklärt werden könnten. Er stellte jedoch fest, daß Hühner, die zweifelhaft auf Alt-tuberkulin reagierten, auch mit dem synthetischen Tuberkulin nur zweifelhafte Reaktionen erbrachten. Andererseits beobachtete er, daß das Alt-tuberkulin zum Teil sogar stärkere positive Reaktionen lieferte als das synthetische.

Klein und Steffke (13) beschäftigten sich sehr ausführlich mit der Treffsicherheit der Tuberkulinprobe beim Huhn. Sie stellten fest, daß der günstigste Ablesetermin 48 Stunden nach der intrakutanen Injektion liegt, daß aber auch bei diesem Ablesetermin die Fehlerquelle noch sehr hoch ist. Sie führen diese Fehler einmal auf eine starke Schwankung der antigenen Struktur der Tuberkulosebakterienstämme und zum anderen auf eine häufig vorkommende Bakteriämie zurück, in deren Verlauf die sessilen Antikörper blockiert werden. Sie empfehlen, um die Wirksamkeit der Tuberkulinprobe zu erhöhen, eine geeignete Auswahl von Tuberkulosestämmen.

Die Geflügel-tuberkulose auf serologischem Wege, nämlich mit Hilfe einer Frischblutsmellagglutination zu diagnostizieren, wurde erst in jüngster Zeit versucht.

Chiri (4) führte bei seinen Differenzierungsversuchen der saurefesten Bakterien mittels des Agglutinationsverfahrens Untersuchungen zur Herstellung einer stabilen Aufschwemmung von Tuberkulosebakterien durch, es gelang ihm durch Verreibung der Kulturmassen (2 - 10 mg Bakterienmasse je ccm) und durch Abzentrifugieren der nicht zerreibbaren Bakterienkonglomerate eine homogene, leicht milchig getrübbte Bakterienaufschwemmung zu erhalten, die ein halbes mg Bakterien je ccm enthielt. Diese Aufschwemmung blieb einige Tage stabil und agglutinierte dann spontan. Er stellte weiter fest, daß die Agglutination der Gallinaceusstämme, mit Ausnahme der R-Form, ausgesprochen flockig ist.

Auch Abel (1) versuchte eine homogene Aufschwemmung der Tuberkelbakterien herzustellen. Die Versuchsanordnung war im Prinzip dieselbe wie bei Chiri (4). Er zentrifugierte 2mal und erhielt eine Aufschwemmung von 1/3 bis 1/10 mg Bakterienmasse je ccm. Diese geringe Bakteriendichte lieferte zwangsläufig bei den Agglutinationsversuchen schwächere Agglutinationswerte, wodurch die Beurteilung der Agglutinationsreaktion sehr erschwert wurde.

Im Jahre 1943 wurden in Amerika von Moses, Feldmann und Mann (17) die ersten Versuche unternommen, mit Hilfe einer Schnellagglutination die Geflügeltuberkulose zu diagnostizieren. Sie arbeiteten jedoch noch mit Bluserum, so daß sich diese Methode für die Praxis als ungeeignet erwies. Sie stellten Antigene aus konzentrierten Suspensionen ausgewählter Bakterienstämme her. Diese Antigene waren in der Lage, spezifische mycobacterielle Seroagglutinine zu entdecken.

Auf der Arbeit von Moses, Feldmann und Mann aufbauend, gelang es Karlson, Zinner und Feldmann (12) eine Methode zu entwickeln, die auch bei Versuchen unter Praxisbedingungen zu verwerten war. Aus 40 Tuberkulosebakterienstämmen wurden verschiedene Frischblutschnellagglutinationsantigene hergestellt. 17 der 40 Stämme wurden wegen Autoagglutination ausgeschieden. Nur 5 Stämme zeigten einen hohen Spezifitätsgrad bei der Prüfung mit Seren tuberkulöser und gesunder Hühner. 4 Bestände mit insgesamt 282 Tieren wurden untersucht. 44 Hühner reagierten bei der intrakutanen Kehllappenprobe positiv und alle 44 gaben auch eine positive Agglutinationsreaktion. 14 Hühner reagierten bei der intrakutanen Probe negativ und bei der Schnellagglutination positiv. Nur 2 dieser 14 Hühner zeigten bei der Sektion makroskopisch sichtbare tuberkulöse Veränderungen. Die restlichen 12 waren auch histologisch, mikroskopisch und kulturell negativ. Diejenigen Tiere, welche bei der Schnellagglutination positiv reagiert hatten, kamen aus 3 Beständen, die tuberkulös verseucht waren. Die Hühner eines Gehöftes, die keine po-

sitiven Tuberkulinreaktionen zeigten, waren auch bei der Schnellagglutination negativ. Die Technik der Schnellagglutination bestand darin, auf einer warmen Platte einen Tropfen Blut aus dem Kamm des Huhnes mit einem Tropfen Antigen zu vermischen, die Platte dann auf einen von 26-Watt-Glühhirnen erwärmten Behälter zu stellen und die Reaktion nach 1 Minute abzulesen.

A. W. Prochorow (20) isolierte aus 130 Tuberkulosekulturen nur einen für die Schnellagglutination brauchbaren Stamm (Nr. 3), der eine hohe Agglutinationsfähigkeit besaß. Er hat dieses Antigen an experimentell und natürlich tuberkuloseinfizierten bzw. versuchten Beständen geprüft. Er untersuchte 23 355 Tiere, überwiegend Hühner. Durch die Tuberkulin-Kehllappenprobe wurden 756 (3,2 %) Reagenten ermittelt. Von den restlichen 22 599 Tieren, die in der allergischen Probe nicht reagiert hatten, wiesen noch 2 079 (9 %) in der Frischblutschnellagglutination positive Reaktionen auf.

Prochorow, Fomina und Akulow (21) prüften 17 Stämme auf ihre Eignung zur Herstellung eines Antigens. 6 Stämme erwiesen sich als brauchbar. Sie prüften das Antigen an 152 Hühnern aus tuberkuloseversuchten Hühnerfarmen.

Jedes Huhn wurde auch der allergischen Probe unterzogen (2-fache Tuberkulinisierung). Beim Agglutinationsverfahren reagierten 100 und bei der allergischen Probe 91 Hühner positiv. Bei 77 Hühnern (50,6 %) stimmten die positiven Ergebnisse der Schnellagglutination mit der intrakutanen Probe überein.

Auch Halik (10) prüfte an 371 Hühnern die Treffsicherheit des Frischblutschnellagglutinationstestes. Zur Antigenherstellung benützte er 9 frisch isolierte Stämme und den Laborstamm Borstel. Er stellte fest, daß der Stamm Borstel den frisch isolierten Stämmen überlegen war. Er verwendete daher bei seinen weiteren Versuchen den Stamm Borstel als Antigen und konnte bei künstlich infizierten Versuchshühnern schon am 7. bis 20. Tag post infectionem eine positive Agglutinationsreaktion feststellen. Auch in mehreren tuberkulös versuchten Geflügelbeständen war die Frischblutagglutination der Kehllappentuberkulinprobe an Leistungsfähigkeit überlegen. Er konnte an 88 Hühnern, bei denen die Tuberkulose durch Sektion, histologische und bakteriologische Untersuchungen nachgewiesen worden war, zeigen, daß 47,7 % mehr infizierte Hühner in der Frischblutschnellagglutination ermittelt werden konnten als mit der Tuberkulinprobe.

Vior und Sirbu (25) berichten in ihren Untersuchungen über die Diagnose der Geflügeltuberkulose, daß die serologischen Tests, d.h. Schnell- und Lang-

sam-Agglutination, bessere Ergebnisse lieferten, als die intrakutane Probe. Es wurden mit Hilfe der Schnellagglutination 61,2 % mehr Hühner erfaßt als mit der Tuberkulinprobe. Die Spezifität der positiven Reaktionen wurde in 76 - 100 % durch Sektion, bakteriologische und histologische Untersuchungen bestätigt.

Hillier (11) fand unter 25 selektierten Stämmen 3 Stämme, die sich zur Antigenherstellung für die Frischblutschnellagglutination eigneten. Er verwendete unterschiedliche Nährmedien und erhielt dadurch die Möglichkeit einer Bestimmung der S-, der RS- und R-Formen und der damit zusammenhängenden Suspendierbarkeit und des Agglutinationsvermögens der Stabilität. Nur 3 Stämme erwiesen sich nach der Züchtung auf 4 verschiedenen Nährböden als stabil. Optimale Reaktionen wurden bei einer 10 %igen Bakteriensuspension beobachtet. Bei der Agglutination zeigten sich antigenische Unterschiede der 3 Stämme. 1 Stamm reagierte feinflockiger als die beiden anderen Stämme. Von 55 infizierten Tieren reagierten bei der Schnellagglutination alle 55 mit deutlichen positiven Reaktionsbildern innerhalb von 30 Sekunden, während mit der Tuberkulinprobe nur 13 Tiere positiv waren. Von 63 in der Schnellagglutination negativen Tieren reagierte keines bei der intrakutanen Probe. Von den 55 erstgenannten Hühnern waren 30 künstlich infiziert worden. Alle 30 hatten bei der Sektion tuberkulöse Veränderungen (Leber, Lunge, Milz), 18 der restlichen 25 Tiere zeigten bei der Sektion ebenfalls tuberkulöse Veränderungen. Die 7 verbliebenen Tiere wurden kulturell nicht untersucht.

Schließer und Berger (24) verwendeten die Schnellagglutination in den bäuerlichen Geflügelhaltungen eines Praxisgebietes. Sie untersuchten 53 Geflügelbetriebe mit insgesamt 2 428 Hühnern. Das Alter der Tiere lag zwischen 2 und 3 Jahren, zum Teil aber auch zwischen 4 und 5 Jahren. Die Frischblutschnellagglutination erbrachte 308 positive Tiere (12,7 %). Mit der Kehllappenprobe dagegen reagierten nur 160 Tiere (6,6 %) positiv. 158 Tiere reagierten in der Schnellagglutination und in der intrakutanen Probe übereinstimmend positiv. Übereinstimmend negativ waren 2 109 Hühner. Von den 52 untersuchten Beständen erwiesen sich 43 (81 %) als verseucht. 43 der in der Schnellagglutination positiven und in der intrakutanen Probe negativen Tiere wurden getötet. Bei 40 (93 %) konnte Tuberkulose nachgewiesen werden.

H. H. Loewe (14) untersuchte vergleichend 154 experimentell mit Tuberkulose infizierte Hühner und 76 tuberkulosefreie Hühner (Kontrollhühner) mit Hilfe der Frischblutagglutination und der Tuberkulinkehllappenprobe. Er führte in 4 Geflügelgroßbeständen an 591 Hühnern 2 133 Frischblutschnellagglutinationen mit 10 verschiedenen Antigenen vergleichend zur Tuberkulinkehllappen-

probe durch. Zur Bestätigung der Ergebnisse der Frischblutschnellagglutination bzw. der Tuberkulinkehlappenprobe zog er bei sämtlichen Hühnern im Anschluß an diese Untersuchungen die pathologisch-anatomischen und bakteriologischen Befunde heran. Er fand bei diesen Untersuchungen, daß die Frischblutschnellagglutination mit den meisten Antigenen der Tuberkulinkehlappenprobe in der Reaktionssicherheit unterlegen ist. Eine Ausnahme bildeten die Antigene nach Hiller und die Charge E, die die Reaktionssicherheit der Kehlappenprobe um etwa 29 % bzw. 13 % übertrafen. Er verzeichnete bei der Frischblutschnellagglutination bei allen Antigenen einen hohen Prozentsatz unspezifischer Reaktionen. Er führte das Versagen der Antigene auf geringe Haltbarkeit und Lagerung unter ungünstigen Bedingungen (Temperatur, Schütteln usw.) zurück.

Aus dem aufgeführten Schrifttum ergibt sich, daß der Geflügeltuberkulose eine große Bedeutung zukommt und daß in der Frischblutschnellagglutination ein gewisser Wert als diagnostisches Verfahren liegt. In eigenen Untersuchungen sollte nun die Brauchbarkeit der Frischblutschnellagglutination zur Diagnose der Geflügeltuberkulose in Versuch und Praxis überprüft werden.

### III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### A. Material und Methode

##### 1. Antigen:

Zur Untersuchung wurde das Tuberkuloseantigen des Bakteriologischen Instituts Dr. Rentschler & Co. verwendet. Nach Mitteilung des Produzenten war das Antigen entsprechend den Angaben von K. Hiller hergestellt worden. Die benötigten Versuchsmengen wurden freundlicherweise von der Fa. Dr. Rentschler & Co. zur Verfügung gestellt.

##### 2. Frischblutschnellagglutination:

Das zur Schnellagglutination benötigte Blut wurde aus der Flügelvene des Huhnes mittels eines Lanzettmessers der Fa. Äsculap entnommen. Ein kleiner Einstich in die Flügelvene genügt, da es bei zu kräftigem Einschnitt zu langandauernden Nachblutungen kommen kann. Die Agglutination selbst wurde auf einer quadratischen Glasplatte, die in 25 Felder aufgeteilt und ohne Vertiefungen war, durchgeführt. Das Blut wurde mit dem Lanzettmesser sofort in das auf die Glasplatte vorher aufgetragene Antigen eingerührt. Die große Glasplatte erwies sich als vorteilhaft, weil bei Massenuntersuchungen parallel den Pulorumuntersuchungen 25 Tiere auf einmal untersucht und die Agglutinationsbilder miteinander verglichen werden können. Dieser Vergleich erleichtert wesentlich die Beurteilung der Reaktionsbilder. Nach dem Einrühren des Blutes wurde die Glasplatte mit Hilfe einer Propangasflamme auf ca. 30° C erwärmt. Durch das Erwärmen wird die Zeit bis zum Auftreten der Reaktion verkürzt und es kommt schneller zu einer Ausflockung der Agglutinationen. Das Ablesen erfolgte 1 Minute nach dem Erwärmen. Das Antrocknen der Tropfenränder verhindert, daß die einzelnen Antigen-Blutgemische beim Hin- und Herschwenken der Platte ineinanderlaufen.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse wurden die Agglutinationsbilder entsprechend der Reaktionsstärke bzw. Deutlichkeit folgendermaßen bezeichnet:

R:            Feinflockige Agglutinationen, die sich beim Hin- und Herschwenken der Platte vorwiegend in der Randzone des Reaktionsgemisches konzentrieren.

- +: Feinflockige Agglutinationen im ganzen Bereich des Reaktionsgemisches.
- ++: Deutliche Agglutinationen im ganzen Bereich des Reaktionsgemisches.
- +++ u.  
++++: Stark ausgeprägte, grobflockige Agglutinationen im ganzen Bereich des Reaktionsgemisches.

Abb. 1: Verschiedene Reaktionsbilder auf einer in 25 Felder aufgeteilten Glasplatte (Ausschnitt aus dem Mittelteil).

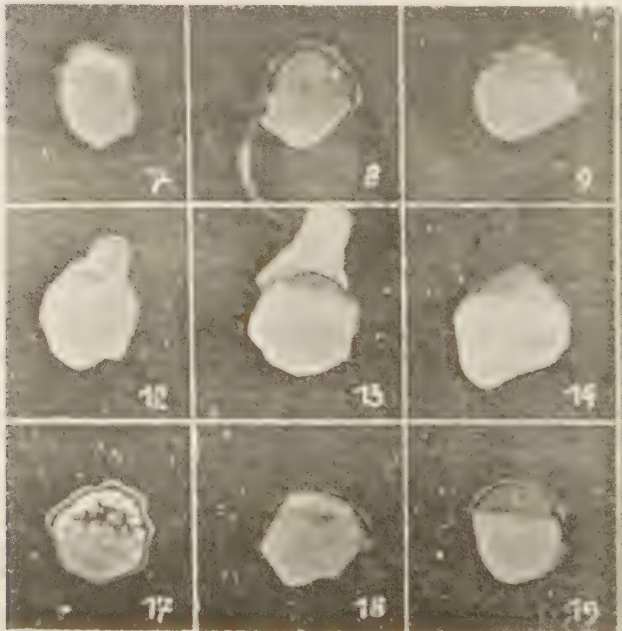


Abb. 2: Positive Frischblut-  
schnellagglutination  
(+++)



Abb. 3: Negative Frischblut-  
schnellagglutination



### 3. Schnellagglutination mit dem Blutgerinnsel toter Hühner:

Auf einen Objektträger wurde 1 Tropfen 1 : 1 verdünnten Testes gebracht. Ein erbsengroßes Stück Blutkoagulum aus dem Herzen wurde mit einer sterilen Pinzette mit dem Test verrührt. Durch Hin- und Herschwenken des Objektträgers konnte nach 10 - 20 Sekunden das Ergebnis abgelesen werden. Noch schneller trat die Reaktion nach kurzem Erwärmen des Objektträgers ca. 30° C ein.

### 4. Schnellagglutination mit dem Muskelpreßsaft toter Hühner:

Als Untersuchungsmaterial diente ein haselnußgroßes Muskelstück aus der Brustmuskulatur des Huhnes. In einem Kompressorium, wie es zur Untersuchung von Fleischproben auf Trichinen Verwendung findet, wurden dann kleine Stückchen der Muskelprobe gepreßt. Nach Öffnen des Kompressoriums und schnellem Entfernen der Muskulatur wurde die herausgequetschte Flüssigkeit mit 2 Tropfen 1 : 1 verdünnten Testes vermischt. 30 Sekunden später konnte die Reaktion abgelesen werden. Auch hier konnte der Reaktionsablauf durch vorsichtiges Erwärmen beschleunigt werden.

### 5. Langsam-Agglutination:

Mit dem Blutserum jedes getöteten Tieres wurde eine Serumlangsamagglutination durchgeführt. Es zeigte sich, daß als Verdünnerflüssigkeit eine 5 %ige Kochsalzlösung gut geeignet war. Die Verdünnungsreihen wurden von der Verdünnung 1 : 5 bis zur Verdünnung 1 : 80 angesetzt. Im Bedarfsfalle wurde bis 1 : 160 verdünnt.

### 6. Zerlegung:

Alle Versuchshühner wurden getötet und seziiert. Bei der Sektion wurde vor allem auf pathologisch-anatomische Veränderungen der Leber, Milz, Lunge, Darm und Knochenmark geachtet. Die Sektion wurde mit sterilem Besteck durchgeführt.

### 7. Mikroskopische Untersuchung:

Von der Milz und Leber jedes Huhnes wurde ein Quetschpräparat angefertigt und eine Tbc-Färbung nach Ziehl-Neelsen durchgeführt. Jedes so gefärbte Präparat wurde 10 Minuten mikroskopisch durchgemustert.

### 8. Histologische Untersuchung:

83mal wurde eine histologische Untersuchung durchgeführt, 32mal wurde die Leber, 9mal die Milz, 1mal die Niere und 41mal die Lunge untersucht. Die Schnitte wurden nach dem Gefrierschnittverfahren hergestellt und mit der verlängerten Ziehl-Neelsen-Färbung gefärbt.

### 9. Kulturversuch:

Von allen getöteten Tieren wurden Kulturversuche mit der Leber und Milz, zum Teil auch mit der Lunge und dem Knochenmark (Oberschenkel) angesetzt. Bei den dazu verwendeten Nährböden handelte es sich um die von Nassal empfohlenen 4 Petraghani-Nährmedien mit und ohne Glycerinzusatz sowie mit und ohne Gasaustausch und um den Toluidinblau - Malachitgrün - Petraghani Nährboden mit Gasaustausch. Alle aus den Kulturen isolierten Bakterienstämme wurden einer kulturellen Typendifferenzierung unterworfen. Die Kulturen wurden bei wöchentlicher Kontrolle 8 Wochen bebrütet. War nach dieser Zeit keine Koloniebildung festzustellen, so wurden diese Kulturen als negativ bezeichnet und ausgeschieden.

### B. Vorversuche

1. In Vorversuchen zeigte es sich, daß die Dichte des Antigens für die im Stuttgarter Tierärztlichen Untersuchungsamt übliche Technik der Frischblutschnellagglutination zu stark war. In vergleichenden Untersuchungen wurde daher zunächst die optimale Dichte bestimmt. Als Verdünner diente die von der Herstellerfirma verwendete Lösung. In diesen Versuchen wurden 42 (aus einer Gemeinde des Kreises Öhringen stammende) tuberkuloseverdächtige Hühner mit unverdünntem und mit verdünntem Test untersucht. Bei 29 Hühnern war die Reaktion mit 1 : 1 verdünntem Test (1 Teil Test, 1 Teil Verdünner), zu gleichen Teilen mit Frischblut vermischt, wesentlich stärker (+++), als die Reaktion des Normaltests. Bei 13 Hühnern war die Reaktion gleich. Verdünnungen von mehr als 1 : 1 waren weniger geeignet (Tabelle 1).

Tabelle 1:

Einfluß der Testverdünnung auf den Ausfall der Frischblutschnellagglutination

| Tiere<br>Nr. | Normales Antigen | 1 : 2 verdünntes<br>Antigen | Tuberkulose auf<br>Grund des Sektions-<br>befundes |
|--------------|------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------|
| 1            | +++              | +++                         | +                                                  |
| 2            | +++              | +++                         | +                                                  |
| 3            | +++              | +++                         | +                                                  |
| 4            | -                | +                           | +                                                  |
| 5            | ++               | +++                         | +                                                  |
| 6            | -                | -                           | -                                                  |
| 7            | +                | +++                         | +                                                  |
| 8            | -                | +                           | +                                                  |
| 9            | -                | R                           | +                                                  |
| 10           | -                | -                           | -                                                  |
| 11           | -                | R                           | -                                                  |
| 12           | ++               | ++++                        | +                                                  |
| 13           | -                | +++                         | +                                                  |
| 14           | R                | +                           | +                                                  |
| 15           | +                | +++                         | +                                                  |
| 16           | -                | R                           | +                                                  |
| 17           | -                | -                           | -                                                  |
| 18           | -                | -                           | -                                                  |
| 19           | -                | +                           | +                                                  |
| 20           | -                | -                           | -                                                  |
| 21           | +++              | +++                         | +                                                  |
| 22           | -                | +                           | +                                                  |
| 23           | -                | -                           | -                                                  |
| 24           | -                | +                           | +                                                  |
| 25           | -                | -                           | -                                                  |
| 26           | R                | ++                          | +                                                  |
| 27           | R                | +                           | +                                                  |
| 28           | -                | -                           | -                                                  |
| 29           | +                | +++                         | +                                                  |
| 30           | -                | R                           | +                                                  |
| 31           | -                | R                           | +                                                  |
| 32           | -                | R                           | +                                                  |
| 33           | +                | +++                         | +                                                  |

Fortsetzung Tabelle 1:

| Tiere<br>Nr. | Normales Antigen | 1 : 2 verdünntes<br>Antigen | Tuberkulose auf Grund des<br>Sektionsbildes |
|--------------|------------------|-----------------------------|---------------------------------------------|
| 34           | -                | R                           | +                                           |
| 35           | -                | -                           | -                                           |
| 36           | -                | R                           | +                                           |
| 37           | -                | R                           | +                                           |
| 38           | ++               | +++                         | +                                           |
| 39           | ++               | +++                         | +                                           |
| 40           | -                | R                           | +                                           |
| 41           | ++               | ++++                        | +                                           |
| 42           | -                | -                           | -                                           |

Tabelle 2:

Einfluß der Antigenmenge auf den Ausfall der Frischblutschnellagglutination

| 1/2 Tropfen | 1 Tropfen | 2 Tropfen | 1:3 verd. Test<br>1 Tropfen | 1:2 verd. Test<br>1 Tropfen |
|-------------|-----------|-----------|-----------------------------|-----------------------------|
| -           | -         | -         | -                           | -                           |
| +           | R         | R         | R                           | +                           |
| ++          | R         | (R)       | (R)                         | ++                          |
| +           | R         | -         | R                           | R                           |
| (+)         | (+)       | R         | R                           | +                           |
| ++++        | ++++      | R         | +++                         | ++++                        |
| ++++        | ++++      | ++        | +++                         | ++++                        |
| ++++        | ++++      | +++       | ++++                        | ++++                        |

2. In weiteren Vorversuchen wurde das Mengenverhältnis von Testflüssigkeit und Frischblut in Beziehung zur Stärke der Reaktion an 8 Hühnern geprüft. Dabei hat es sich gezeigt, daß 1 Tropfen des 1:1 verdünnten Antigens mit 1 Tropfen Frischblut die besten Ergebnisse brachte (Tabelle 2). Bei höherer Antigentropfenzahl wurde die Reaktion schwächer und undeutlicher. Antigen in der Menge eines halben Tropfens mit 1 Tropfen Hühnerblut vermischt war trotz guter Ergebnisse ungeeignet, weil es zu einer zu schnellen Eintrocknung des Reaktionsgemisches kam.

Zusammenfassend ergab sich aus diesen Vorversuchen, daß 1 Tropfen des handelsüblichen Antigens, 1:1 vorverdünnt, mit 1 Tropfen Frischblut vermischt, die besten Agglutinationsbilder ergab. Bei den folgenden Versuchen wurde daher mit Antigen 1:1 verdünnt und 1 Tropfen Frischblut gearbeitet.

### C. Untersuchungen an lebenden Hühnern (Feldversuche)

Nachdem in Vorversuchen die Technik der Schnellagglutination geprüft worden war, wurden verschiedene Hühnergruppen vergleichenden Untersuchungen unterzogen.

#### 1. Hühnergruppe:

Bei der ersten Hühnerherde handelte es sich um 56 Tiere aus einer Gemeinde des Kreises Künzelsau (bäuerliche Geflügelhaltungen). Die Hühner wurden im Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart aufgestellt. Nicht alle Tiere hatten bei der Untersuchung auf Tuberkulose mittels der Tuberkulinprobe vor der Aufstellung im STUA Stuttgart positiv reagiert, so daß trotz intensiver Stallhaltung im STUA mit negativen Tieren gerechnet werden mußte. Alle Tiere wurden vergleichend mit der intrakutanen Tuberkulinprobe und der Frischblutschnellagglutination untersucht und nach 8 Tagen getötet, pathologisch-anatomisch und histologisch auf Tuberkulose sowie mikroskopisch und kulturell auf das Vorhandensein von Tuberkulosebakterien untersucht. Die Tiere waren alle sehr gut bis gut genährt und zum großen Teil war der Eierstock in Tätigkeit. In der Schnellagglutination reagierten 33 der 56 untersuchten Tiere positiv. Bei 29 der 33 Schnellagglutinationsreagenten wurde pathologisch-anatomisch oder histologisch Tuberkulose oder mikroskopisch oder kulturell Tuberkulosebakterien nachgewiesen. Das bedeutet, daß bei 87,8 % der in der Schnellagglutination reagierenden Tiere Tuberkulose nachgewiesen werden konnte.

Insgesamt wurden bei 39 Tieren mit den klassischen diagnostischen Labormethoden Tuberkulose festgestellt. Somit haben 10 der mit Tuberkulose infizierten Tiere nicht in der Schnellagglutination reagiert, d. h. 74,36 % der nachgewiesenen tuberkulosekranken Hühner reagierten in der Schnellagglutination positiv.

Von den 39 nachgewiesenen tuberkulosekranken Hühnern reagierten bei der intrakutanen Tuberkulinprobe 23 positiv. 16 Tiere wurden bei der Kehllappenprobe nicht erfaßt (58,98 %).

## 2. Hühnergruppe:

Bei dieser Gruppe handelt es sich um einen intensiv gehaltenen Althühnerbestand mit 225 Tieren, bei dem durch die Sektion einzelner Tiere Tuberkulose nachgewiesen war. 46 der untersuchten Tiere reagierten in der im Intervall durchgeführten Schnellagglutination positiv. Von diesen 46 Tieren wurde eine Auslese von 23 Stück, Reagenten von R = +++ , im Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart getötet und untersucht. Vorher waren alle Tiere der Tuberkulinprobe unterzogen worden. Bei 20 der 23 in der Schnellagglutination positiven Tiere konnte pathologisch-anatomisch oder histologisch Tuberkulose oder mikroskopisch oder kulturell Tuberkulosebakterien nachgewiesen werden. 86,95 % der in der Schnellagglutination positiven Tiere konnten mit den klassischen Labormethoden als Tuberkulose infiziert bestätigt werden. Von den 20 tuberkuloseinfizierten Tieren reagierten mit der Tuberkulinprobe nur 10, also 50 %, positiv. Alle Tiere waren sehr gut genährt und bei allen Tieren war der Eierstock in Tätigkeit.

## 3. Hühnergruppe:

Diese 29 Tiere stammten ebenfalls aus einem intensiv gehaltenen Althühnerbestand des Kreises Künzelsau. Es handelte sich um die in der zweiten Versuchsgruppe beschriebenen Tiere, die in der nach 3 Tagen erfolgten Ablesung der Tuberkulinprobe positiv reagiert hatten. Die Tiere wurden im Untersuchungsamt aufgestellt, 4 Wochen nach der ersten Untersuchung noch einmal dem Agglutinationsverfahren unterzogen und dann geschlachtet. Wieder waren alle diese Tiere gut genährt und bei allen war der Eierstock in Tätigkeit. Alle diese Tiere hatten in der Tuberkulinkehlappenprobe bis +++ positiv reagiert, 6 reagierten in der Frischblutschnellagglutination positiv und bei allen 6 wurden mit den klassischen Labormethoden Tuberkulose oder Tuberkulosebakterien nachgewiesen (100 %). Die restlichen 23 Tiere waren nicht an Tuberkulose erkrankt.

## 4. Hühnergruppe:

59 Hühner wurden bei diesem Versuch untersucht, 6 Tiere starben interkurrent. Alle 6 Hühner hatten bei der Sektion hochgradige Organtuberkulose von Leber, Milz, Lunge und Darm. Von diesen Tieren wurden keine Kulturen angelegt. 5 der 59 Hühner waren abgemagert, der Rest sehr gut bis gut genährt. Außer bei den 5 abgemagerten Tieren war bei allen übrigen der

Hierstock in Tätigkeit, in der Frischblut Schnellagglutination reagierten 20 Tiere positiv. Bei 26 dieser 20 Hühner wurde pathologisch-anatomisch oder histologisch Tuberkulose oder mikroskopisch oder kulturell Tuberkulosebakterien nachgewiesen (80,6 %). Insgesamt wurde bei 32 Hühnern eine tuberkulöse Infektion mit den klassischen Labormethoden gefunden. 6 nachgewiesenen Tbc-krankte Tiere hatten in der Schnellagglutination nicht reagiert (18,75 %). In der Schnellagglutination reagierten also 31,25 % der nachgewiesenen kranken Hühner. Von den insgesamt 32 mit Tuberkulose infizierten Tieren wurden bei der Tuberkulinprobe nur 10 erfaßt (31,2 %). 17 Tiere reagierten in der Tuberkulinprobe positiv. Bei 10 dieser Tiere (58,8 %) konnte Tuberkulose nachgewiesen werden.

### 5. Hühnergruppe:

Ein ganzer Bestand von 78 Tieren aus einer Gemeinde des Kreises Künzelsau wurde mit der intrakutanen und Schnellagglutinationsmethode untersucht. Der größte Teil dieser Tiere war gut genährt. Durch die Mauser hatte aber der überwiegende Teil der Hühner die Legetätigkeit eingestellt. Nach der Tötung und nach den Laboratoriumsuntersuchungen ergab sich folgendes Bild: Bei der Schnellagglutination reagierten 27 Hühner positiv. Bei 22 dieser Tiere konnte mit den klassischen Labormethoden Tuberkulose nachgewiesen werden. Das bedeutet, daß bei 81,4 % der in der Schnellagglutination positiven Hühner sicher eine Tuberkuloseinfektion stattgefunden hatte. Insgesamt wurde bei 29 Tieren pathologisch-anatomisch oder histologisch Tuberkulose oder mikroskopisch oder kulturell Tuberkulosebakterien gefunden. 7 mit Tuberkulose infizierte Hühner reagierten in der Schnellagglutination nicht. Es wurden also 75,9 % der nachgewiesenen kranken Tiere mit der Schnellagglutination erfaßt. Bei der Tuberkulin-Kehllappenprobe reagierten 20 Tiere positiv. Bei 10 dieser Tiere (50 %) konnte Tuberkulose nachgewiesen werden. Von insgesamt 29 festgestellten tuberkuloseinfizierten Tieren wurden mit der intrakutanen Probe nur 10 ermittelt (34,5 %).

### 6. Hühnergruppe:

Bei diesen 145 Hühnern handelt es sich um den Rest der zweiten Hühnergruppe von insgesamt 225 Tieren. Diese Tiere hatten bei der damaligen Untersuchung weder in der Schnellagglutination noch in der Tuberkulinprobe ein positives Ergebnis gebracht. Die Untersuchungen ergaben folgendes Bild:

In der Frischblutschnellagglutination reagierten 35 Tiere positiv. Bei 26 (74,3 %) wurde Tuberkulose nachgewiesen. Insgesamt wurde bei 31 Tieren dieses Bestandes Tuberkulose nachgewiesen. Von diesen 31 Hühnern zeigten 26 in der Schnellagglutination keine positive Reaktion (83,9 %). Der Prozentsatz kehrt wurden 83,9 % der nachgewiesenen tuberkulosekranken Hühner mit dieser Methode erfaßt. Alle diese Tiere waren gut genährt, aber durch die Mauser hatte der überwiegende Teil der Tiere die Legetätigkeit eingestellt. Besonders hoch war bei diesem Bestand die Erkrankung der Lunge als einzigem befallenen Organ. Bei 19 Tieren waren ein oder mehrere kleine tuberkulöse Herde in der Lunge vorhanden.

### 7. Hühnergruppe:

Ein ganzer Bestand mit 19 Hühnern aus einer Gemeinde des Kreises Öhringen wurde untersucht. Alle Hühner dieser Gemeinde waren ein Jahr zuvor mit der Kehllappenprobe tuberkulinisiert worden. Alle Bestände mit Reagenten waren damals ausgemerzt und in der ganzen Gemeinde die Hühnerhaltung von der extensiven in eine intensive Form umgewandelt worden. Als Wiederholungsuntersuchung wurde nun die Frischblutschnellagglutination durchgeführt. Es zeigten sich bei dieser Art der Untersuchung so viele Nachreagenten, daß es notwendig erschien, einen ganzen Bestand im Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart zu untersuchen. Bei diesem Bestand handelte es sich vorwiegend um Althühner, die bei der Tuberkulinprobe negativ reagiert hatten, und um einige Jungtiere, die nach der Sanierung hinzugekauft worden waren. Die Untersuchung brachte folgendes Ergebnis:

Bei der Schnellagglutination reagierten 8 der 19 Tiere positiv. Bei 7 dieser positiven Tiere wurde histologisch Tuberkulose nachgewiesen (87,5 %). Insgesamt wurde bei 9 Tieren histologisch Tuberkulose festgestellt. 2 dieser positiven Tiere reagierten nicht in der Schnellagglutination. Das bedeutet, daß 77,8 % der mit den klassischen Labormethoden nachgewiesenen kranken Tiere in der Schnellagglutination reagiert hatten. Bei der intrakutanen Probe ergab sich folgendes Bild:

Nur 2 der 9 tuberkuloseinfizierten Tiere hatten geringgradig in der Kehllappenprobe reagiert (22,2 %). Alle diese Tiere waren gut bis sehr gut genährt. Infolge der Mauser waren die Eierstöcke in Ruhe. Bei allen Tieren konnte die Tuberkulose histologisch in der Lunge festgestellt werden.

## 8. Hühnergruppe:

In einem großen Lehr- und Versuchsbetrieb wurden 217 Tiere aus verschiedenen Ställen (Intensivhaltung) mit der Frischblutschnellagglutination getestet. Dabei zeigten sich keine Agglutinationen, die irgendwie dem eingangs erwähnten Beurteilungsschema entsprochen hätten. Aus dem betreffenden Betrieb wurden im Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart laufend Tiere zur Untersuchung eingesandt. Es ergab sich auch bei der Sektion und Untersuchung dieser Tiere niemals ein Anhaltspunkt, der für das Vorhandensein von Tuberkulose gesprochen hätte.

## Zusammenfassung der Ergebnisse:

409 Hühner wurden insgesamt vergleichend mit der Frischblutschnellagglutination und der intrakutanen Tuberkulinprobe untersucht und nach der Tötung pathologisch-anatomisch und zum Teil histologisch auf Tuberkulose sowie mikroskopisch und kulturell auf das Vorhandensein von Tuberkulosebakterien untersucht. Die Hühner stammten aus extensiven bäuerlichen Hühnerhaltungen einer Versuchsgemeinde, aus größeren Intensivbeständen und aus einem kleinen bäuerlichen Intensivbestand. Bis auf wenige Ausnahmen waren alle Tiere sehr gut genährt und mit Ausnahme der Tiere, die sich in der Mauser befanden, war bei allen Hühnern der Eierstock in Tätigkeit.

Bei 167 der 409 untersuchten Hühner konnten mit den klassischen Labormethoden Tuberkulose oder Tuberkulosebakterien nachgewiesen werden. Von diesen 167 sicher mit Tuberkulosebakterien infizierten Tieren konnten mit der Frischblutschnellagglutination 136 (81,43 %) erfaßt werden, während mit der Kehllappentuberkulinprobe nur 63 (37,7 %) Hühner gefunden wurden.

Übereinstimmende positive Reaktionen bei der serologischen und allergischen Untersuchung lagen bei 47 der Tiere mit festgestellter Tuberkulose vor.

Insgesamt hatten in der Frischblutschnellagglutination 163 Tiere eine positive Agglutinationsreaktion, d.h. 27 positive Frischblutschnellagglutinationsreaktionen konnten nicht durch die klassischen Labormethoden bestätigt werden. In der Kehllappentuberkulinprobe hatten insgesamt 99 Hühner eine positive Reaktion und somit konnte bei 36 Tieren mit positivem Kehllappenbefund durch die klassischen Labormethoden keine Tuberkulosebakterien nachgewiesen werden. Bei den gefundenen Erregern handelte es sich durchweg um das *Mycobacterium avium*.

## D. Untersuchungen an toten Hühnern

Da gegebenenfalls eine Schnellidiagnose der Tuberkulose die Arbeit des Tierarztes oder Labors wesentlich erleichtern könnte, wurde geprüft, ob sich das Verfahren der Frischblutschnellagglutination auch auf die Untersuchung von Blutgerinnsel oder Muskelpreßsaft toter Hühner übertragen läßt.

### 1. Schnellagglutination mit Blutgerinnsel toter Hühner:

Die Schnellagglutination mit Blutgerinnsel aus dem Herzen toter Hühner wurde an 12 Tieren neben der mikroskopischen Untersuchung durchgeführt. Verwendet wurde Avitest Warthausen. Alle Tiere hatten pathologisch-anatomisch hochgradige Tuberkuloseveränderungen von Leber, Milz, Lunge und Darm. Sämtliche 12 Hühner reagierten bei der Schnellagglutination bis zu ++++ positiv.

### 2. Schnellagglutination mit dem Muskelpreßsaft toter Hühner:

An 13 Tieren wurde versucht, mit Hilfe des Muskelpreßsaffes durch eine Schnellagglutination bei verkaufsfertigen, tiefgefrorenen, ausgenommenen Tieren eine Reaktion nachzuweisen. Bei diesen Versuchen wurden dieselben Tiere wie bei der Schnellagglutination mit Herzblut verwendet. Alle Tiere reagierten auch bei diesem Versuch positiv. Die Reaktionsstärke blieb aber meist um eine Stufe hinter der Blutschnellagglutination zurück.

## E. Besprechung der Ergebnisse

Insgesamt wurden 409 lebende Hühner vergleichend mit der Tuberkulinprobe und mit der Frischblutschnellagglutination und nach der Tötung pathologisch-anatomisch oder histologisch, mikroskopisch oder kulturell auf Tuberkulose oder Tuberkulosebakterien untersucht. Es ergab sich folgendes Bild:

Von den mit den klassischen Labormethoden nachgewiesenen tuberkuloseinfizierten Tieren reagierten in der Schnellagglutination 84,43 % positiv. Die Tuberkulinprobe erfaßte aber nur 37,72 % der nachgewiesenen tuberkuloseinfizierten Tiere, oder umgekehrt konnten 62,2 % der schon infizierten Hühner mit dieser Methode nicht erfaßt werden.

## 1. Allgemeine Gesichtspunkte zur Pathogenese und Verlaufsform der Hühnertuberkulose

Bei den in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß zu Beginn der Erkrankung die Tuberkulose sich vorwiegend in der Milz und in der Leber lokalisierte, Meistens handelt es sich in diesem Krankheitsstadium um eine Miliartuberkulose in der Leber und um bis zu erbsengroße Herde in der Milz. Bei der sechsten untersuchten Hühnergruppe wurden bei 19 Tieren Tuberkuloseherde in der Lunge festgestellt. Es handelt sich hier um intensivgehaltene Tiere. Dieses Ergebnis läßt möglicherweise den Schluß zu, daß es bei der Intensivhaltung durch die vermehrte Staubbildung sehr leicht zu einer aerogenen Infektion kommt (Staubinfektion). Bei allen 19 Tieren waren nur wenige miliare Herde in der Lunge festzustellen. Bei fortgeschrittener Krankheit breitet sich die Tuberkulose auf den Darm und die Nieren aus. Es handelt sich dabei immer um hochgradige tuberkulöse Veränderungen in diesen Organen.

Die Tätigkeit des Eierstockes konnte nur bei den ersten 4 Hühnergruppen an insgesamt 75 Tieren mit nachgewiesener Tuberkulose festgestellt werden, da die Tiere der restlichen Gruppen in der Mauser und deshalb die Eierstöcke in Ruhe waren. Bei 64 Tieren erwiesen sich die Eierstöcke als aktiv, und 31 Tiere hatten sogar ein legefertiges Ei im Eileiter. Daraus geht hervor, daß die Mehrzahl der an Tuberkulose erkrankten Tiere noch Eier produziert, und daß somit auch die Möglichkeit besteht, daß die Eier dieser Tiere mit Hühnertuberkelbakterien infiziert sind. Daß bei keinem dieser Hühner makroskopisch eine Eierstocks- oder Eileitertuberkulose festgestellt wurde, ändert daran nichts; denn es ist erwiesen, daß in solchen Fällen die Keime auf dem Blutwege in die Dottersäcke gelangen können.

Der Ernährungszustand der Tiere, bei denen Tuberkulose oder Tuberkulosebakterien nachgewiesen werden konnten, war nur bei Tieren, die an einer ausgeprägten, hochgradigen Tuberkulose litten, schlecht. Mager waren 21 und völlig abgemagert 9 der 167 tuberkulösen Hühner. Um fette Tiere handelte es sich in 41 Fällen, um Tiere in sehr gutem Ernährungszustand in 36 und in gutem Ernährungszustand in 80 Fällen. Aus diesen Zahlen kann man schließen, daß Tiere, die an einer noch nicht fortgeschrittenen, jedoch schon makroskopisch sichtbaren Leber-, Milz- und Lungentuberkulose leiden, in ihrem Ernährungszustand noch nicht beeinträchtigt sind und daß erst schwerste tuberkulöse Veränderungen der Organe zur Abmagerung und zur Kachexie führen. Nur bei einem kleinen Teil tuberkulöser Hühner ergibt sich somit aus dem Ernährungszustand ein Verdacht auf das Vorliegen der Infektion.

den Antikörper und Extrakt ihrer Kernkörperchen vor als Antikörper zu bezeichnen. Die Mykobakterien des Mycobacterium avium getötet werden. Andere Mykobakterien, vor allem auch solche saprophytischer Arten, scheinen deshalb weniger für das Zustandekommen tuberkuloseähnlicher Veränderungen noch für das Vorkommen falscher Blut- oder Tuberkulinreaktionen eine wesentliche Rolle zu spielen.

## 2. Tuberkuloseablauf und Sicherheit der diagnostischen Methoden

Nach der Erfüllung der Section konnte festgestellt werden, daß die Tiere bei Beginn der Erkrankung stark ( $10-40$ ) in der Kehllappenprobe reagierten, während sie in der Schnellmittelschnellagglutination nur geringgradige Reaktionen zeigten ( $R = 0$ ). Bei fortschreitender Erkrankung wurden die Reaktionsstärken der Kehllappenprobe geringer und die Stärke der Blutreaktionen stieg. Es kam vor, daß schwer erkrankte Tiere bei der Kehllappenprobe kaum oder gar nicht reagierten, während bei der Schnellagglutination diese Tiere ausnahmslos bis zu  $4+$  Reaktionen aufwiesen. Das läßt darauf schließen, daß hochgradig an Tuberkulose erkrankte Tiere anergisch geworden sind und deshalb in der Tuberkulinprobe nicht mehr reagierten. Gerade diese Tiere werden aber durch die Blutuntersuchung mit besonders großer Sicherheit erkrankt.

## 3. Die Anwendungsmöglichkeiten der Schnellagglutination bei toten Hühnern

Die Schnellagglutination mit Blutgeinsel toter Hühner kann sehr vorteilhaft im Laboratorium bei Routineuntersuchungen zur Festigung der Diagnose Tuberkulose verwendet werden, da damit eine erhebliche Zeiterparnis gegenüber der Methode der Färbung und der histologischen Untersuchung verbunden ist. Wo in der Praxis derartige aufwendige Untersuchungsmethoden nicht durchführbar sind, ist dies eine Möglichkeit, Hühnertuberkulose nachzuweisen. Die Technik des Ansetzens der Schnellagglutination und das Ablesen der Reaktionen unterscheidet sich nicht wesentlich von den bisher schon üblichen und routinemäßig durchgeführten Agglutinationen zum Nachweis anderer Erkrankungen (Pullorum usw.).

Das Verfahren der Muskelsaftschnellagglutination an toten, ausgenommenen Hühnern könnte angewendet werden, um eingeführtes, tiefgefrorenes, bratfertiges Geflügel stichprobenweise auf Tuberkulose zu untersuchen. Weiterhin wäre es möglich, bei bratfertigen Tieren, die an Untersuchungsstellen eingesandt werden, den Verdacht des Vorliegens von Geflügeltuberkulose zu erheben bzw. ohne den länger dauernden Kulturversuch in kurzer Zeit Tuberkulose

nachzuweisen. Ob dieses Verfahren aber eine genügend große Sicherheit aufweist, können erst umfassendere Untersuchungen an einem größeren Untersuchungsgut klären.

#### 4. Praktische Folgerungen:

##### a) Für die Diagnose der Hühnertuberkulose

Wie aus den vorhergehenden Ausführungen zu ersehen ist, wird bei der Frischblutschnellagglutination ein sehr viel höherer Prozentsatz der mit Tuberkulose infizierten Tiere erfaßt, wie bei der Kehllappentuberkulinprobe. 84,43 % der nachgewiesenen tuberkuloseinfizierten Tiere ergaben mit der Schnellagglutination ein positives Ergebnis, während bei der Tuberkulinprobe nur 37,72 %, also über 40 % weniger, positiv reagierten. Diese Prozentzahlen lassen klar erkennen, daß man die Frischblutschnellagglutination zur Diagnose der Geflügel-tuberkulose als Methode der Wahl betrachten muß. Bei der Erkennung verseuchter Bestände wird diese Methode ein annähernd hundertprozentiges Ergebnis bringen, aber auch die Diagnose am Einzeltier ist um vieles sicherer, als die Diagnose durch die Tuberkulinprobe. Das hierfür erforderliche nur einmalige Einfangen der Hühner, vor allem in großen Beständen, ist ein weiterer Vorteil, der genannt werden muß. Ein ganzer Arbeitsgang, nämlich das Einfangen und Halten der Tiere zum Ablesen der Kehllappenreaktion, wird eingespart.

Diesen zweifellos vorhandenen Vorteilen stehen aber auch einige Nachteile gegenüber. Als Hauptschwierigkeit sind hier in erster Linie die feinsten, unspezifischen Agglutinationen zu nennen, deren Beurteilung, vor allem bei Einzelproben, oft sehr schwierig ist. Die Platte mit 25 Feldern, die einen größeren Vergleich ermöglicht, läßt die scheinbaren positiven Agglutinationen als solche erkennen und als negativ bezeichnen. Schwierigkeiten könnten dem ungelübten Tierarzt die Blutentnahme, die einheitliche Tropfengröße des Antigens und die gleichmäßige Erhitzung der Platte bereiten. Ein weiterer Nachteil ist für die Praxis das u. U. nötig werdende Einstellen des Testes.

Wie aus den Voruntersuchungen zu ersehen ist, wurde bei den Versuchen das Antigen 1 : 2 verdünnt, da mit dieser Verdünnung die besten Ergebnisse erzielt wurden. Es dürfte in der Praxis unmöglich sein, jede Charge zu testen und die beste Verdünnung herauszufinden. Auch die Qualität des Testes ist offensichtlich noch Schwankungen unterworfen. Eine Versuchsreihe mußte ganz wiederholt werden, da das Antigen zum Teil spontan agglutinierte und alle Proben ausnahmslos bei leichtem Erwärmen eine positive Reaktion erbrach-

ten, erwähnt muß dabei werden, daß der im Untersuchungsamt verwendete Test und der Verdünnser im Kühlschrank aufbewahrt wurden und erst kurz vor Beginn der Agglutinationsversuche die Verdünnung vorgenommen wurde.

Diese eben beschriebenen Nachteile spielen allerdings bei den Reihenuntersuchungen im Rahmen des Geflügelgesundheitsdienstes keine Rolle, da die diese Untersuchungen durchführenden Tierärzte die Technik des Ablesens und die Blutentnahme beherrschen. Für den mehr oder weniger ungeübten prakt. Tierarzt können sie aber ins Gewicht fallen.

#### b) Für die Bekämpfung der Hühnertuberkulose

Für die Praxis und für die Geflügelgesundheitsdienste erhebt sich die Frage, ob es mit dieser Methode möglich ist, die Tuberkulose aus unseren Geflügelbeständen auszumerzen und auf Grund dieser Methode ein Tilgungsprogramm, ähnlich dem Rindertuberkulose Tilgungsverfahren, aufzubauen. Weiterhin muß untersucht werden, ob es möglich ist, den in der Schnellagglutination negativen Geflügelbeständen die Bezeichnung "Staatlich anerkannter tuberkulosefreier Geflügelbestand" zuzuerkennen.

Vor einem Jahr wurden in einigen Versuchsgemeinden von Baden-Württemberg die Tiere aller bäuerlichen Geflügelbestände mit der Tuberkulinkehlappenprobe durchuntersucht. Bestände, die ein oder mehrere Reagenten aufwiesen, wurden ausgemerzt. Alle Betriebe stellten ihre Hühnerhaltung auf Intensivhaltung um. Bei der ein Jahr später folgenden Wiederholungsuntersuchung wurde die Frischblutschnellagglutination eingesetzt. In über 2/3 der Hühnerhaltungen, vor allem in den Betrieben, deren Hühner in der vorhergehenden Tuberkulinprobe negativ waren, wurde eine starke Tuberkulose fest festgestellt. Auf Grund dieser Tatsache scheint eine völlige Ausmerzungen der tuberkulosekranken und tuberkuloseinfizierten Tiere durch die Kehlappenprobe unmöglich. Mit der Frischblutschnellagglutination dagegen könnten durch ihre viel höhere Treffsicherheit (ca. 80 %) die kranken Tiere zu einem großen Teil herausgefunden und ausgemerzt werden. Viel wichtiger ist jedoch bei der Hühnerhaltung, vor allem bei kleinen bäuerlichen Betrieben, die Bestandsdiagnose, da Einzeltierausmerzungen keine Sanierung der verseuchten Bestände bringen können. Nur das Abschlachten des ganzen Bestandes, Umstellung auf Intensivhaltung, gründliche Stalldesinfektion und Zukauf tuberkulosefreier Junghennen kann zur Eindämmung der Geflügeltuberkulose führen. Durch die größere Treffsicherheit und die Einfachheit ihrer Durchführung sollte aber auch bei der Bestandsdiagnose der Geflügeltuberkulose die Frischblutschnellagglutination die Untersuchungstechnik der Wahl sein.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Es wurden 409 Hühner vergleichend mit der Tuberkulinkehlappenprobe und der Frischblutschnellagglutination untersucht. Alle Tiere wurden nach der Tötung pathologisch-anatomisch, mikroskopisch, kulturell und zum Teil histologisch auf Tuberkulose oder Tuberkulosebakterien untersucht.
- 2) Die Tiere stammten aus bäuerlichen Intensiv- und Extensivbetrieben, aus reinen Intensivhaltungen und aus einem großen Lehr- und Versuchsbetrieb (Intensivhaltung).
- 3) Unter den 409 Hühnern wurde bei 167 Tieren durch pathologisch-anatomische oder bakteriologische Untersuchung eine Infektion mit *M. avium* nachgewiesen. In der Frischblutschnellagglutination reagierten davon 136 (84,43 %) Tiere; in der Tuberkulinkehlappenprobe aber nur 63 (37,72 %) Hühner positiv.
- 4) Insgesamt reagierten in der Frischblutschnellagglutination 163 Tiere positiv. Bei 27 dieser Hühner konnte mit den klassischen Labormethoden Tuberkulose nicht nachgewiesen werden. In der Kehlappenprobe gab es insgesamt 99 positive Reaktionen. 36 (36,36 %) dieser Reagenten konnten mit den klassischen Labormethoden nicht bestätigt werden.
- 5) Der Großteil der kranken oder infizierten Tiere war gut genährt und nur wenige Tiere hatten infolge Abmagerung oder wegen fortgeschrittener Erkrankung die Legetätigkeit eingestellt.
- 6) Es wurde erfolgreich versucht, mit Blutkoagulum oder dem Muskelpreßsaft toter Hühner und dem Antigen nach Hiller durch eine Schnellagglutination zu einer Diagnose der Geflügeltuberkulose zu kommen. Dieses Verfahren könnte nach weiterer Ausarbeitung und Erprobung für Routineuntersuchungen im Laboratorium und für den Tuberkulosenachweis an bratfertigen Hühnern verwendet werden.
- 7) Die Frischblutschnellagglutination erfaßt zahlenmäßig mehr tuberkulosekranke oder tuberkulös infizierte Hühner als die Tuberkulinkehlappenprobe und ihre Reaktionssicherheit ist größer.

Am Schluß meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, dem hochverehrten verstorbenen Professor Dr. Meyn für die Überlassung des Themas ergebenst zu danken.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Oberregierungsveterinär Dr. Scheu, Herrn Regierungsveterinär Dr. Woernle und Frau Dr. Brunner für die mir bei der Bearbeitung des Themas und bei den Versuchen gewährte Hilfe, sowie für die Überlassung des Materials, aussprechen.

## V. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abel, G.: Versuche einer Differenzierung der säurefesten Bakterien mittels des Agglutinationsverfahrens.  
Zbl. Bakt. I. Orig., 145, 128 (1940).
2. Beller, K.: Zu Fragen der Hühnertuberkulose.  
Deutsche Wirtschaftsgeflügelzucht 4, 45 (1954).
3. Bergmann, J.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 71, 303 (1958).
4. Chiti, G.: Versuche der Differenzierung der säurefesten Bakterien mittels des Agglutinationsverfahrens. Die Unterscheidung der Tuberkelbazillen des Typus gallinaceus von Säugetiertuberkelbacillen.  
Zbl. Bakt. I. Orig. 142, 303 (1938).
5. Drawer, K.: Untersuchungen über die Verbreitung der Geflügel-tuberkulose in bäuerlichen Betrieben des Kreises Kreuznach.  
Mh. Tierhk. 14, 64 (1962).
6. Eißner, G.: Die Standardisierung des Geflügeltuberkulins.  
Zbl. Bakt. I. Orig. 164, 129 (1955).
7. Feldmann, W.H.: Diseases of poultry.  
Ames, Iowa 1952.
8. Fritzsche, K. u. Urrun, W.: Untersuchungen über eine Verbesserung der Technik der Tuberkulinkehlappenprobe beim Huhn.  
Berl. u. Münch. Tierärztl. Wschr. 71, 303 (1958).
9. Gylstorff, I.: Krankes Geflügel.  
Verl. Fr. Pfennigstorff.
10. Halik, J.: Ein Blut- oder Serumagglutinationstest zur Diagnose der Tuberkulose beim Geflügel.  
Vet. Cas. 9, 550-559 (1960).
11. Hiller, K.: Die Diagnose der Geflügeltuberkulose mit Hilfe einer Frischblutschnellagglutination.  
Vet. med. Diss. München 1961.
12. Karlson, A.G., Zinober, M.R. and Mann, F.C.: A Whole Blood Rapid Agglutination Test for Avian Tuberculosis.  
Amer. J. Vet. Res. 10/11, 137 (1950).

13. Klein, H. u. Steffke, E.: Zur epizootologischen Bedeutung der Geflügel-tuberkulose und über die diagnostische Leistungsfähig-keit der intrakutanen Allergieprobe beim Huhn.  
Mh. Vet. Med. 14, 142 (1959).
14. Loewe, H. H.: Vergleichende Untersuchungen zur Diagnostik der Ge-flügel-tuberkulose mit Hilfe der Frischblut-Schnell-agglutination und der Tuberkulinkehlappenprobe.  
Vet. med. Diss. Berlin (Humboldt Universität) 1962.
15. Meyn, A.: Die Hühnertuberkulose und ihre Auswirkung.  
Mh. Tierhke. 14, 24 (1962).
16. Meyn, A. u. Schließer, T. H.: Zu Frage der zweckmäßigsten Gebrauchs-konzentration des Geflügeltuberkulins.  
Mh. f. Tierhkde. 8, 157 (1956).
17. Moses, H. E., Feldmann, W. H. and Mann, F. C.: Mycobacterial Rapid Agglutination Antigens and Their Diagnostic Value in Tuberculosis of Fowl.  
Amer. J. Vet. Res. 4, 390 (1943).
18. Nassal, J.: Geflügeltuberkulose-Menschentuberkulose.  
Der Landarzt, 37, 1412 (1961).
19. Nassal, J.: Vorzugsmilch und Geflügeltuberkulose.  
Mh. Tierhk. 10, 94 (1959).
20. Prochorow, A. W.: Eine neue Methode zur Diagnose der Tuberkulose am lebenden Tier.  
Zs. Veterinarije, 35, 60-64 (1958).
21. Prochorow, A. W.; Fomina und Akulow: Gefahren in der Anwendung der Bluttropfenagglutination zur Diagnostik der Hühner-tuberkulose.  
Tierhkde, 32, Nr. 11 (1958).
22. Reinhard, R.: Lehrbuch der Geflügelkrankheiten.  
Schaper, Hannover 1950.
23. Schaaf, J. u. Beerwerth, W.: Die Geflügeltuberkulose des Rindes, ihre Organlokalisation und ihre Bedeutung als Ursache un-spezifischer Tuberkulinreaktionen.  
Mh. Tierhk. 12, 59 (1960).

24. Schließer, Th. u. Berger, W.: Vergleichende Untersuchungen mit der Frischblutschnellagglutination und der Tuberkulinkehlappenprobe beim Huhn.  
Mh. Tierhk. 14, 91 (1962).
25. Vior, C. u. Sirbu, Z.: Untersuchungen über die Diagnose der Hinner-tuberkulose.  
Ref. Landwirtschaftliches Zbl. IV Abt., 7, 79 (1961).

## L e b e n s l a u f

Am 16. April 1935 wurde ich, Karl-Eberhard Mäder, in Eßlingen am Neckar als Sohn des damaligen Stadttierarztes Dr. Karl Mäder und seiner Ehefrau Erna, geb. Dobler, geboren. Von 1940 - 1945 besuchte ich die Volksschule und von 1945 - 1950 das Goldberg-gymnasium in Böblingen. Ich wechselte 1950 an das Gymnasium Nagold über, wo ich im Frühjahr 1956 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1956 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Universität in Gießen und setzte mein Studium an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München fort. 1961 bestand ich dort das tierärztliche Staatsexamen. Im November 1961, nach Absolvierung der Praktikantenzeit, erhielt ich die Approbation als Tierarzt. Das folgende halbe Jahr war ich in der Praxis tätig. Vom 1. Mai 1962 bis 31. Januar 1963 arbeitete ich am Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart und begann auch dort meine Doktorarbeit. Vom 1. Februar 1963 bis 15. Juli 1963 betätigte ich mich als Vertreter in der tierärztlichen Praxis und vom 1. August 1963 bis 31. Oktober 1963 absolvierte ich am Schlachthof in Stuttgart eine 3monatige Praktikantenzeit als Vorbereitung für die tierärztliche Staatsprüfung.





